

## ● THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix的使用条件 [Qiagen RotorGene]

### (1) 反应液的配置

下面是按 25 $\mu$ l 体系进行反应的例子。

| 试剂                             | 25 $\mu$ l 反应 | 最终浓度          |
|--------------------------------|---------------|---------------|
| 无菌水                            | X $\mu$ l     |               |
| THUNDERBIRD®<br>SYBR® qPCR Mix | 12.5 $\mu$ l  | 1x            |
| Forward Primer                 | 7.5 pmol      | 0.3 $\mu$ M*1 |
| Reverse Primer                 | 7.5 pmol      | 0.3 $\mu$ M*1 |
| DNA 溶液                         | Y $\mu$ l     |               |
| 总体积                            | 25 $\mu$ l    |               |

\*1: 在扩增效率不高的情况下增加引物浓度, 或者在发生非特异性扩增的情况下 (用低浓度模板进行反应时, 扩增曲线的起峰较差) 降低引物浓度, 反应结果可能会改善。引物终浓度的参考值为 0.2~0.6  $\mu$ M。

### (2) PCR 循环条件设置

| 步骤   | 温度                     | 时间              | 升降速率     |
|--|------------------------|-----------------|----------|
| 预变性  | 95° C                  | 60秒             | 最大       |
| PCR (35~40 cycles)                             | 变性 95° C<br>延伸 60° C*2 | 5~15秒<br>10~30秒 | 最大<br>最大 |
| (Data Collection 请设定在延伸步骤)                     |                        |                 |          |
| 溶解曲线分析 (Melting / Dissociation Curve Analysis) |                        |                 |          |

\*2: 扩增效率不高的情况下, 可降低温度, 发生非特异性反应 (用低浓度模板进行反应时, 扩增曲线的起峰较差) 时, 可提高温度, 由此可改善反应结果。温度范围参考值为 56~64° C。

## 东洋纺 (上海) 生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路500号华润时代广场28楼AL单元

邮编: 200122

交货期限 • 订货相关咨询

Tel: 021-5879-4900 Fax: 021-5879-4901

E-Mail: sales@bio-toyobo.cn

产品内容 • 技术相关咨询

Tel: 021-5879-4142 Fax: 021-5879-5259



E-Mail: tech@bio-toyobo.cn

<http://www.bio-toyobo.cn>